Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg im Breisgau

Direktor: Professor Dr. Dr. h. c. Ludwig Heilmeyer

Über die Wirkung von Glucose und Fructose auf die Glucuronidbildung beim gesunden Menschen

Auszug aus der

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau

1962.

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

vorgelegt von

Ernst Richter

aus Flensburg

1963

Dekan: Professor Dr. Albrecht Fleckenstein
Referent: Professor Dr. Werner Creutzfeldt

„Wesentliche Teile der vorliegenden Arbeit werden von Herrn Ernst Richter als Dissertation der Medizinischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br. vorgelegt.“

Sonderdruck
aus „Klinische Wochenschrift", 40. Jahrgang, 2. Heft, 15. Januar 1962, S. 75—80
Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg / J. F. Bergmann, München

Über die Wirkung von Glucose und Fructose auf die Glucuronidbildung beim gesunden Menschen*

Von

K. Beck und E. Richter

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. L. Heilmeyer)

Es waren vor allem die Arbeiten von Südhof aus den Jahren 1952—1954[49,50], die zu unseren Untersuchungen Anlaß gaben. Der Verfasser konnte im Tierexperiment eine fördernde Wirkung der beiden Hexosen Glucose und Fructose auf die Glucuronidbildung feststellen. Kaninchen, die mit Menthol intravenös belastet worden waren, schieden in den darauffolgenden 2 Std mehr gepaarte Glucuronsäuren im Harn aus, wenn man gleichzeitig Glucose oder Fructose intravenös verabreicht hatte, wobei die Glucose eine stärkere Wirkung zeigte als die Fructose[51]. Wir haben in der Folge die Verhältnisse beim Menschen untersucht.

Methodik

Die Übertragung der Südhofschen Versuchsanordnung auf die eigenen Untersuchungen war nicht gut möglich, da die intravenöse Verabreichung einer Mentholsuspension beim Menschen zu gefährlich wäre. Die zweieinhalbfache Menge der bei den Versuchen üblicherweise verwandten Dosis hatte bereits den Tod der Versuchstiere zur Folge[49]. Abgesehen davon bot die von uns gewählte orale Verabreichung sowohl des Menthols als auch des Zuckers den Vorteil, beide Substanzen auf dem direkten Wege über die Pfortader an die Leber zu bringen, wo die Glucuronidsynthese vornehmlich stattfindet und die Zucker ihre Wirkung entfalten müssen. Niere und Darmschleimhaut, die ebenfalls Glucuronide bilden können, sind in quantitativer Hinsicht von untergeordneter Bedeutung[1,8,15,16,24,25,33,48,52].

Es wurden zehn gesunde Studenten morgens nüchtern mit jeweils 4 g Menthol** belastet. Während der sechsstündigen Versuchsdauer mußten die Probanden streng liegen und Nahrungskarenz einhalten. Die Flüssigkeitszufuhr wurde konstant gehalten. Nach Entleeren der Blase wurde das Menthol in einer feuchten Oblate zusammen mit 1 Liter dünnem heißem Lindenblütentee verabreicht, dann in einstündigen Abständen jeweils weitere 200 ml Tee nachgereicht, so daß während der ganzen Versuchsdauer bei jedem Versuch 2 Liter Flüssigkeit getrunken wurden. Während im Leerversuch das Menthol nur mit Tee gegeben wurde, wurde dieser in den zwei weiteren Versuchen mit den gleichen Versuchspersonen einmal mit Glucose und einmal mit Fructose gesüßt. Und zwar enthielt die erste Portion Flüssigkeit (1000 ml) 20 g Zucker, die fünf weiteren Portionen (mit je 200 ml) jeweils 6 g Zucker. Das heißt, während der sechsstündigen Versuchsperiode wurden insgesamt 50 g Glucose bzw. 50 g Fructose verabfolgt.

Nach der Gabe des Menthols wurde der Urin in Einstundenportionen gesammelt und in einstündigen Abständen Blut abgenommen. Wie früher[3] wurde die Harn-Glucuronsäure nach der Methode von Dische[11], die Glucuronid-Glucuronsäure im Serum nach der Methode von Fishman und Green[21] bestimmt. Da im menschlichen Harn keine freie Glucuronsäure ausgeschieden wird[55], entspricht hier die Gesamt-Glucuronsäure der Glucuronid-Glucuronsäure. Im Serum wird dagegen vor der Bestimmung die freie Glucuronsäure zu Zuckersäure oxydiert. Bei jedem Bestimmungsgang liefen fünf Eichlösungen von Glucuronsäurelacton mit.

Zwischen den einzelnen Versuchen bei der gleichen Versuchsperson lag ein Zeitraum von mindestens 3 Tagen. Außerdem wurde die Reihenfolge der Versuche von Versuchsperson zu Versuchsperson nach zufälligen Gesichtspunkten geändert.

Ergebnisse

Glucuronidausscheidung im Harn. Die gefundenen Einzelwerte finden sich in Tabelle 1, 2 und 3. Aus Tabelle 4 ist ersichtlich, daß die Gesamtmenge der innerhalb der sechsstündigen Versuchsdauer anfallenden Glucuronide durch keinen der beiden Zucker signifikant vermehrt wurde.

Tabelle 1. *Glucuronsäure im Harn in mg nach Belastung mit 4 g Menthol*

Nr.	Name	1. Std	2. Std	3. Std	4. Std	5. Std	6. Std
1	B. K.	74	289	485	*551*	442	306
2	E. R.	76	312	396	503	525	*634*
3	B. N.	69	304	497	*521*	442	462
4	G. B.	107	374	*603*	507	484	429
5	H. W.	74	283	*518*	511	446	425
6	P. P.	115	316	*792*	454	339	252
7	H. M.	75	196	431	*539*	391	378
8	G. S.	45	170	273	*733*	316	390
9	E. M.	41	145	398	500	*915*	565
10	K. R.	88	333	*576*	542	541	450
Mittelwerte		76	272	497	536	484	429

Schließt man aus der im Harn anfallenden Glucuronsäuremenge auf die Menge des entgifteten Menthols — wobei die geringe Grundausscheidung von anderen gepaarten Glucuronsäuren nach eigenen Werten[2,4] und denen aus der Literatur[6,22,26,27,37] mit 100 mg/6 Std berücksichtigt wurde — so

* Die Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

** l-Menthol, DAB 6.

Tabelle 2. *Wie in Tabelle 1 bei zusätzlicher Verabreichung von Glucose*

Nr.	Name	1. Std	2. Std	3. Std	4. Std	5. Std	6. Std
1	B. K.	96	512	*561*	477	386	263
2	E. R.	165	375	403	458	*601*	522
3	B. N.	68	250	*657*	475	486	396
4	G. B.	100	437	*505*	504	449	410
5	H. W.	140	615	*673*	480	431	240
6	P. P.	284	*640*	506	441	287	230
7	H. M.	50	261	357	*608*	517	373
8	G. S.	68	332	509	519	*562*	497
9	E. M.	85	348	535	*556*	411	344
10	K. R.	102	424	310	*567*	525	462
Mittelwerte		116	419	502	509	466	373

Tabelle 3. *Wie in Tabelle 1 bei zusätzlicher Verabreichung von Fructose*

Nr.	Name	1. Std	2. Std	3. Std	4. Std	5. Std	6. Std
1	B. K.	109	412	*490*	434	333	267
2	E. R.	176	420	426	497	*616*	371
3	B. N.	110	405	*720*	420	396	404
4	G. B.	135	495	*559*	374	342	282
5	H. W.	71	360	*422*	421	392	341
6	P. P.	149	577	*680*	582	199	140
7	H. M.	175	*630*	270	449	535	322
8	G. S.	91	305	312	497	*630*	600
9	E. M.	93	198	393	*546*	523	525
10	K. R.	100	232	429	*692*	489	504
Mittelwerte		121	403	470	491	446	376

Tabelle 4. *Glucuronsäureausscheidung im Harn innerhalb von 6 Std nach Verabreichung von 4 g Menthol*

	Mittelwerte mg	Standard-abweichung mg
Leerversuche	2289	±220
Mit Glucose	2374	±116
Mit Fructose	2307	±175

Zufallswahrscheinlichkeit p	
Glucose/Leerversuch	$>0,2$
Fructose/Leerversuch	$>0,9$
Glucose/Fructose	$>0,3$

findet man, daß in jedem Falle nach 6 Std um 1,8 g, also etwas weniger als die Hälfte der verabreichten Mentholmenge, als Glucuronid ausgeschieden war. Dabei ist aber die Glucuronsäureausscheidung auch in der 6. Std nach Belastung noch auf ein Vielfaches der Norm (normal 10—20 mg/Std) erhöht (siehe Tabelle 1, 2 und 3). Der geringe Teil des Menthols, der als Glucuronid durch die *Galle* ausgeschieden werden kann, dürfte nach Abspaltung der Glucuronsäure durch die Glucuronidase des Darmes[55] wieder rückresorbiert werden, also einen enterohepatischen Kreislauf durchmachen und letztlich ebenfalls als Glucuronid im Harn erscheinen. Über den Weg des Mentholanteiles, der nicht an Glucuronsäure gepaart wird, ist auch heute noch nichts Sicheres bekannt. Williams[55] nimmt eine Sprengung des C_6-Ringes mit weitgehendem Abbau des Mentholmoleküls an, nachdem andere synthetische Entgiftungswege nicht aufgefunden wurden. Beim Menschen dürfte dieser Anteil aber gering sein. Aus früheren Befunden[4] ist zu schließen, daß bei oraler Verabreichung von 1 g Menthol innerhalb von 12 Std etwa 80% als Glucuronid im Harn erscheinen. Dabei war die Glucuronidausscheidung auch nach 24 Std noch leicht erhöht. Es ist demnach durchaus möglich, daß beim Menschen bei der gewählten Dosierung alles resorbierte Menthol als Glucuronid entgiftet wird. Dies würde am ehesten erklären, warum die Zucker letzten Endes zu keiner absoluten Mehrausscheidung von Mentholglucuronid führen, was übrigens auch für die Südhofschen Untersuchungen[49] zutreffen dürfte. Dadurch, daß kein anderer kompensatorischer Entgiftungsmechanismus wesentlich beteiligt wäre, müßte schließlich alles Menthol über seine gepaarte Glucuronsäure den Organismus verlassen. Ausführlicheres zu diesem Problem findet sich bei Richter[41].

Tabelle 5. *Glucuronsäureausscheidung im Harn innerhalb von 2 Std nach Verabreichung von 4 g Menthol*

	Mittelwerte mg	Standard-abweichung mg
Leerversuche	348	± 96
Mit Glucose	535	±192
Mit Fructose	524	±168

Während jedenfalls aus unseren Befunden zu schließen ist, daß auf lange Sicht — zumindest beim Menschen — mit und ohne Zucker die gleiche Menge Menthol als Glucuronid entgiftet wird, läßt sich ein Effekt der Zucker nachweisen, wenn man den Urin fraktioniert und die Glucuronsäure in den einzelnen Harnfraktionen getrennt bestimmt. Die Glucuronide fallen beschleunigt an. Aus Tabelle 2 und 3 ist zu ersehen, daß während der ersten beiden Stunden nach der Belastung eindeutig mehr Glucuronsäure im Harn erschien, wenn Zucker verabreicht wurde, während die späteren Fraktionen unter Zucker weniger Glucuronsäure enthielten als im Leerversuch. Innerhalb der ersten 2 Std nach Belastung kamen unter Glucose 54%, unter Fructose 51% mehr Glucuronsäure zur Ausscheidung (Tabelle 5). In beiden Fällen läßt sich die Differenz der Mittelwerte mit $p<0,01$ statistisch sichern, während sich die beiden Zucker untereinander in ihrer Wirkung nicht signifikant unterscheiden ($p>0,8$).

Zu erwähnen wäre noch, daß die ausgeschiedenen Harnmengen bei den drei Versuchsgruppen in keiner Stunde signifikant voneinander abwichen, die Befunde also nicht auf eine unterschiedliche Diurese zurückgeführt werden können[41].

Glucuronidspiegel im Serum. Die in einstündigen Abständen nach der Mentholgabe bestimmten Glucuronid-Glucuronsäurewerte im Serum finden sich in Tabelle 6, 7 und 8. Wie die Mittelwerte veranschaulichen, liegen bei Zuckerverabreichung auch im Serum

Tabelle 6. *Serumglucuronid-Glucuronsäure in mg-% nach Belastung mit 4 g Menthol*

Nr.	Name	1. Std	2. Std	3. Std	4. Std	5. Std	6. Std
1	B. K.	3,9	7,9	8,6	*10,0*	6,7	5,1
2	E. R.	5,6	7,5	8,1	9,1	*10,9*	9,0
3	B. N.	5,2	7,1	8,9	*9,1*	8,0	8,0
4	G. B.	4,2	9,1	*12,1*	10,2	7,9	6,2
5	H. W.	4,3	7,6	*10,3*	9,2	7,1	6,5
6	P. P.	6,1	*10,4*	8,8	8,0	5,9	2,5
7	H. M.	5,4	6,9	8,1	8,1	*8,2*	7,1
8	G. S.	6,1	6,6	5,1	4,7	7,4	*7,5*
9	E. M.	4,3	4,4	7,4	8,3	*8,8*	7,3
10	K. R.	7,6	8,1	9,1	9,4	*10,0*	9,4
Mittelwerte		5,3	7,6	8,7	8,6	8,1	6,9

Tabelle 7. *Wie in Tabelle 6 bei zusätzlicher Verabreichung von Glucose*

Nr.	Name	1. Std	2. Std	3. Std	4. Std	5. Std	6. Std
1	B. K.	6,1	8,0	*8,8*	7,3	5,6	5,1
2	E. R.	4,9	5,3	7,3	8,2	*9,5*	6,3
3	B. N.	3,9	5,7	7,6	*8,4*	5,3	4,8
4	G. B.	5,1	6,3	*9,7*	8,1	7,0	5,0
5	H. W.	6,0	*8,3*	7,5	5,3	3,8	3,4
6	P. P.	7,4	8,3	*8,7*	7,1	6,5	6,0
7	H. M.	5,0	7,2	*8,6*	7,5	6,7	5,8
8	G. S.	5,4	6,5	6,9	*7,7*	6,6	6,0
9	E. M.	5,3	6,2	*10,2*	8,3	7,7	7,0
10	K. R.	7,5	6,9	8,2	9,1	*10,0*	8,8
Mittelwerte		5,7	6,9	8,4	7,7	6,9	5,8

Tabelle 8. *Wie in Tabelle 6 bei zusätzlicher Verabreichung von Fructose*

Nr.	Name	1. Std	2. Std	3. Std	4. Std	5. Std	6. Std
1	B. K.	7,0	9,9	*11,6*	8,4	6,8	5,5
2	E. R.	7,3	4,9	7,3	*8,1*	6,6	4,7
3	B. N.	6,2	9,2	*9,8*	8,0	8,3	6,5
4	G. B.	6,0	*8,3*	7,6	6,3	5,9	3,3
5	H. W.	7,1	9,9	9,4	*10,9*	8,8	6,5
6	P. P.	7,4	*8,9*	8,5	6,4	5,2	5,7
7	H. M.	6,0	6,2	6,8	7,2	*8,7*	6,3
8	G. S.	5,9	4,9	5,4	5,9	*8,4*	7,6
9	E. M.	5,2	6,0	9,3	*9,9*	8,6	8,3
10	K. R.	7,5	6,5	8,1	*10,5*	*12,6*	10,8
Mittelwerte		6,6	7,5	8,4	8,2	8,0	6,5

nur die ersten Werte höher als die entsprechenden der Leerversuche. Bereits der Wert 2 Std nach Belastung und alle folgenden liegen niedriger. Unter Glucose fällt der Glucuronidspiegel steiler ab als unter Fructose und im Leerversuch. Aber auch der erste Mittelwert, 1 Std nach der Belastung, liegt nach Glucose nur wenig höher als bei den Versuchen ohne Zucker. Die geringe Differenz der Mittelwerte von 0,4 mg-% läßt sich nicht statistisch sichern ($p > 0{,}3$). Dagegen hat die Fructose während der Zeit des beschleunigten Glucuronidanfalles im Harn auch zu einem eindeutig höheren Glucuronidspiegel im Serum geführt ($p < 0{,}01$). Dieser Wert 1 Std nach Belastung liegt auch noch signifikant höher als der entsprechende des Glucosekollektivs ($p < 0{,}02$).

Die unterschiedliche Wirkung der beiden Zucker auf den Glucuronidspiegel des Serums bei gleichem Effekt auf die Glucuronidausscheidung im Harn ist schwerlich anders zu erklären, als daß die Glucose bei geringerem Einfluß auf die Glucuronidbildung in der Leber noch einen Einfluß auf die Niere ausübt.

Schließlich sollte sich eine Beschleunigung der Glucuronidbildung auch in einer Verschiebung des Maximums des Glucuronidspiegels im Serum bzw. der stündlichen Glucuronidmenge im Harn auf einen früheren Zeitpunkt manifestieren[13], s. auch [3, 4, 29, 53]. An den Durchschnittswerten ist in dieser Hinsicht kein Effekt der Zucker abzulesen. Dieser wäre warscheinlich zutage getreten, wenn wir in noch kürzeren Zeitabständen Blut abgenommen und den Urin in noch kleineren Fraktionen gesammelt hätten. So wird unter allen drei Versuchsbedingungen das durchschnittliche Maximum des Glucuronidspiegels im Serum 3 Std nach der Belastung erreicht und fällt die maximale Glucuronidmenge im Harn in der 4. Std nach Belastung an. Betrachtet man jedoch die Maxima bei den einzelnen Versuchspersonen gesondert, so zeigt sich doch eine Tendenz zur Linksverschiebung. Sie treten bei mindestens der Hälfte der Untersuchten früher auf, wenn man Zucker verabreicht, und nur selten später (Tabelle 9).

Tabelle 9. *Einfluß der Zuckerverabreichung auf das Auftreten der maximalen Serumglucuronidspiegel und der maximalen Glucuronsäureausscheidung im Harn bei den einzelnen Versuchspersonen nach Belastung mit 4 g Menthol*

	Früher	Zur gleichen Zeit	Später
Im Serum unter			
Glucose	5	4	1
Fructose	6	3	1
Im Harn unter			
Glucose	5	3	2
Fructose	5	3	2

Diskussion

Ein beschleunigender Einfluß der Hexosen auf die Paarung des Menthols mit Glucuronsäure war bereits vor den Südhofschen Untersuchungen am Kaninchen durch die Arbeiten von Schmid[42] sowie Lipschitz und Bueding[33] bekannt. Ersterer konnte bei hungernden Fröschen durch Gaben von Glucose die infolge Glykogenverarmung der Leber darniederliegende Glucuronidbildung wieder in Gang bringen und so die mit Menthol vergifteten Tiere am Leben erhalten. Bei den in vitro-Untersuchungen von Lipschitz und Bueding zeigten sowohl Glucose als auch Fructose einen zwar leichten, aber eindeutigen beschleunigenden Effekt auf die Mentholglucuronidbildung von Rattenleberschnitten. Eine Verkettung der Glucuronidsynthese mit dem Kohlenhydratstoffwechsel wurde bereits seit der Entdeckung der gepaarten Glucuronsäuren in der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts diskutiert[43], nachdem die chemische Verwandtschaft der Glucuronsäure mit der Glucose diesen Gedanken von vornherein nahe legte*. Genauere Vorstellungen über die bestehenden Zusammenhänge wurden aber erst nach 1950 mit der Entdeckung und Darstellung der Uridin-Cofermente[7, 30, 44] und der Abklärung der biochemischen Abläufe bei der Glucuronidsynthese[5, 17, 18, 28, 35, 38, 40, 46, 47] möglich.

Heute weiß man, daß die Glucuronsäure von der Uridindiphosphoglucuronsäure (UDPGs), ihrer aktiven Form, durch eine Transferase, die sich vornehmlich in den Mikrosomen der Leberzelle findet, auf die zu entgiftende Substanz übertragen wird:

$$\text{UDPGs} + \text{Paarling} \rightarrow \text{Glucuronid} + \text{UDP}.$$

UDPGs wird aus der Uridindiphosphoglucose (UDPGl) unter Mitwirkung einer Dehydrogenase und von DPN als Wasserstoffacceptor gebildet:

$$\text{UDPGl} + 2\,\text{DPN}^+ \rightarrow \text{UDPGs} + 2\,\text{DPNH} + 2\,\text{H}^+.$$

Uridindiphosphoglucose stellt aber gleichzeitig die aktive Form der Glucose für den Glykogenaufbau dar[31]. Sie entsteht aus Glucose-1-phosphat (Gl-1-P) und Uridintriphosphat (UTP) über das Ferment UDPG-pyrophosphorylase:

$$\text{Gl-1-P} + \text{UTP} \rightleftharpoons \text{UDPGl} + \text{PP}.$$

Glucose-1-phosphat seinerseits stammt entweder aus dem Glykogenabbau über das Ferment Phosphorylase unter Aufnahme von anorganischem Phosphat, oder es entsteht aus freier Glucose über Glucose-6-phosphat mit Hilfe von Hexokinase, Adenosintriphosphat (ATP) und Phosphoglucomutase.

UTP wird aus UDP unter Mithilfe von ATP und dem Ferment Nucleosiddiphosphokinase nach folgender Gleichung regeneriert:

$$\text{ATP} + \text{UDP} \rightleftharpoons \text{UTP} + \text{ADP}.$$

Man kann die oben dargestellten Reaktionen in dem von Isselbacher[28] so genannten Uridindiphosphatcyclus vereinigen und aus dem Schema Abb. 1 ersehen, daß letzten Endes auch bei der Glucuronidbildung das Adenosintriphosphat den initialen Energiedonator darstellt. Dabei sollte jedoch nicht übersehen werden, daß der Cyclus insgesamt gesehen nicht endergon ist. Bei der Dehydrierung der Uridindiphosphoglucose zu Uridindiphosphoglucuronsäure werden zwei Moleküle $DPNH_2$ gebildet, die bei ausreichender Sauerstoffzufuhr und intakter Atemkette 6 Moleküle ATP liefern können, also genügend Energie, um den Cyclus in Gang zu halten. Die Glucuronidsynthese wird damit bilanzmäßig von zusätzlicher Energiezufuhr von außen unabhängig.

Nach diesen Gegebenheiten wird die Bedeutung der verabreichten *Glucose* bei der Glucuronidbildung vor allem darin zu suchen sein, daß sie nach Durchlaufen der Stufen Glucose-6-phosphat, Glucose-1-phosphat, Uridindiphosphoglucose, Uridindiphosphoglucuronsäure ihre 6-Kohlenstoffkette für die

* Die früheren Arbeiten zu diesem Thema sind in ihrer Bedeutung für die damals vorherrschenden Hypothesen in der 1. Auflage der Monographie von Williams, Detoxication Mechanisms[54], ausführlich besprochen. Zur älteren Literatur wird deshalb auf dieses Werk verwiesen.

Glucuronidbildung zur Verfügung stellt. Daß sie tatsächlich als ganzes Molekül in die Glucuronide eingebaut wird, konnte durch Untersuchungen mit C^{14}-Glucose bewiesen werden[14,19,20,36]. Im Zusammenhang mit unserem Thema seien vor allem die Arbeiten von Eisenberg und Gurin erwähnt, die intraperitoneal verabreichte asymmetrisch markierte Glucose qei mit Menthol gefütterten Kaninchen im Mentholglucuronid wiederfanden und aus der Analyse der Glucuronidglucuronsäure schließen konnten, daß keine Spaltung der C_6-Kette stattgefunden hatte[19,20]. Zusätzlich liefert die Glucose durch die Oxydation ihrer endständigen Hydroxylgruppe zur Carboxylgruppe,

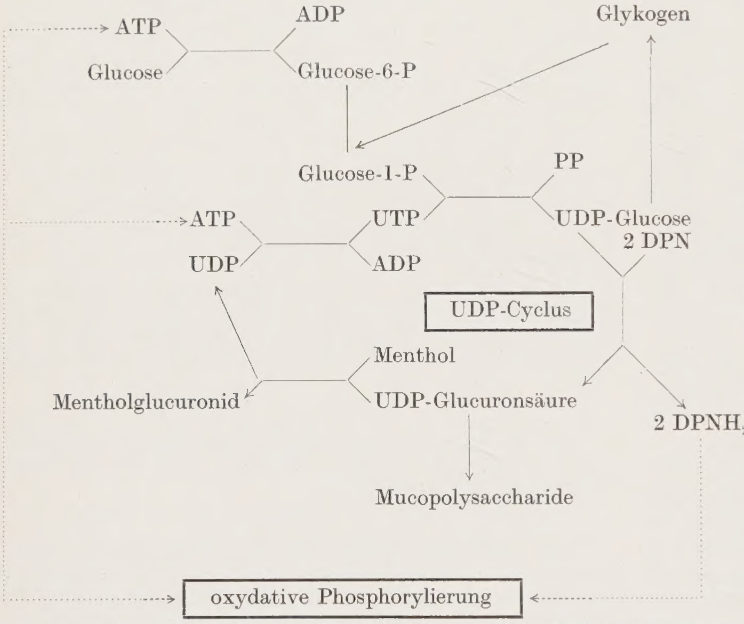

Abb. 1. Die Glucuronidsynthese und ihre Beziehungen zu anderen Stoffwechselvorgängen (in Anlehnung an das Schema über den UDP-Cyclus von Isselbacher[28]). Abkürzungen: ATP = Adenosintriphosphat; ADP = Adenosindiphosphat; UDP = Uridindiphosphat; UTP = Uridintriphosphat; PP = Pyrophosphat; DPN = Diphosphopyridinnucleotid (oxydierte Form); $DPNH_2$ = Diphosphopyridinnucleotid (reduzierte Form)

wie aus dem oben Gesagten hervorgeht, noch Energie, die zur weiteren Glucosephosphorylierung und UTP-Regeneration ausgenützt werden könnte.

Bei der Glykogenbildung, bei welcher der Uridindiphosphatcyclus schon vorher durch Spaltung der Uridindiphosphoglucose geschlossen wird, bleibt diese zusätzliche Energielieferung der Glucose ebenso aus, wie bei der Glykosidbildung der Pflanzenzellen, die Glucose ebenfalls von der Uridindiphosphoglucose auf das entsprechende Aglykon übertragen können[9]. Dagegen müßte auch die Mucopolysaccharidbildung über die Uridindiphosphoglucuronsäure[30,48] mit einer positiven Energiebilanz einhergehen.

Daß letzten Endes bei der Glucuronidbildung durch die Ausscheidung der Hexose im Harn doch große Mengen an Energie verlorengehen, liegt auf der Hand, denn bei vollständiger Verbrennung der Glucose wären 38 Moleküle Adenosintriphosphorsäure statt nur sechs gebildet worden.

Theoretisch müßte ein größeres Glucoseangebot allein schon durch den Substratdruck imstande sein, die Glucuronidbildung auf dem oben beschriebenen Wege zu beschleunigen, auch wenn nicht ein Teil davon — wie es de facto natürlich geschieht — durch glykolytische Spaltung und Endoxydation als reiner Energiedonator vollständig verbrannt würde. Ihre Wirksamkeit als echte Vorstufe der Glucuronidglucuronsäure ist jedenfalls ohne weiteres verständlich.

Der beobachtete beschleunigende Effekt der *Fructose* auf die Glucuronidsynthese ist in gleicher Weise nicht zu erklären*. Sie kommt als direkte Vorstufe der Glucuronid-Glucuronsäure nicht in Betracht. Die Menge, die im Darm in Glucose umgewandelt werden kann, dürfte beim Menschen gering sein[10,23] (s. auch Tabelle 11). In der Leber wird sie nach ihrer Phosphorylierung zu Fructose-1-phosphat sofort in die Triosen Phosphodioxyaceton und Glycerinaldehyd gespalten, so daß sie keinesfalls als ganzes Molekül in den Uridindiphosphatcyclus einmünden kann. Falls sie ebenfalls beschleunigende Mengen von Substrat in Form von Glucose-1-phosphat liefern sollte, so müßte das auf dem Wege über ihre 3-Kohlenstoffbruchstücke und deren Rekondensation, also über etliche Stufen mehr als bei der Glucose geschehen. Dabei könnte ihr allerdings zustatten kommen, daß sie wesentlich schneller phosphoryliert wird und insulinunabhängig in den Leberstoffwechsel eintritt. Ferner ist zu bedenken, daß Lipschitz und Bueding gerade durch 3-Kohlenstoffkörper eine Beschleunigung der Glucuronidbildung sahen, die über die durch Hexose hervorgerufene hinausging[33], daß Packham und Butler markiertes Lactat und Pyruvat in gleichem Ausmaße in das Alpha-Naphtholglucuronid eingebaut fanden wie markierte Glucose[39], und daß auch Doerschuk nach Verabreichung von C^{14}-Glycerin mit Borneol an Meerschweinchen eine höhere Radioaktivität im ausgeschiedenen Borneolglucuronid messen konnte[12], als Mosbach und King[36] nach Verabreichung von C^{14}-Glucose.

Abgesehen davon, müßte eigentlich schon aus der Tatsache, daß die Fructose zu besonders schneller Glykogenanreicherung in der Leber befähigt ist, auf einen ebenso günstigen Einfluß auf die Glucuronidbildung geschlossen werden können. Denn beide Synthesen hängen in gleicher Weise von der Bereitstellung von Uridindiphosphoglucose ab.

Schließlich wird durch die Zufuhr und den schnelleren Umsatz von Fructose die ATP-Regeneration in der Leber stärker gefördert als durch die von Glucose. Obwohl der Ablauf des Uridindiphosphatcyclus, wie erwähnt, auch ohne zusätzliche Energiezufuhr gewährleistet sein dürfte, schließt dies nicht aus, daß sich eine schnelle Wiederauffüllung der ATP-Depots trotzdem beschleunigend auf die Glucuronidbildung auswirkt. Und zwar nicht nur deshalb, weil die Geschwindigkeit der UTP-Regeneration aus UDP sicherlich auch von der Menge des bereitgestellten ATP abhängt, sondern weil nach neuesten Untersuchun genvon Pogell und Leloir[40] auch die Glucuronyltransfe rase selbst — und damit der letzte Schritt der Glucuronidbildung — durch ATP aktiviert wird, was sich teilweise mit einer Hemmung des UDP-Zerfalles erklären läßt.

So dürfte letzten Endes die bessere Verwertung der Fructose in der Leber die Ursache dafür sein, daß sie trotz ihrer langsameren Absorption aus dem Darm[34] und trotz ihres weiten Weges zum Glucose-1-phosphat die Mentholglucuronidbildung in der gesunden menschlichen Leber stärker förderte als die Glucose. Dabei

* Zur Literatur über den Fructosestoffwechsel wird auf die neuere zusammenfassende Arbeit von Leuthardt und Stuhlfaut[32] verwiesen.

mag ihr die Applikationsart zustatten gekommen sein, da im Zusammenhang mit ihrem leberspezifischeren Stoffwechsel die Anflutung über die Pfortader besonders günstige Voraussetzungen für ihre Wirkung bietet und sie bei oraler Verabreichung in weit größerem Ausmaß in der Leber zurückgehalten wird als die Glucose.

Ob sie allerdings mehr durch verstärkte Bildung von Glucose-1-phosphat wirkt wie die Glucose, oder die Glucuronidsynthese vor allem durch eine schnellere ATP-Regeneration stimuliert, also mehr als Substratdonator oder mehr als Energiedonator in Erscheinung tritt, wird sich erst durch vergleichende Untersuchungen über den Einbau von radioaktiver Glucose und radioaktiver Fructose in die Glucuronide klären lassen, die derzeit in unserem Labor im Gange sind.

Es bleibt die Frage, warum die Glucose trotz ihrer offenbar geringeren Beschleunigung der Glucuronidbildung in der Leber zu einer gleichen Beschleunigung des Glucuronidanfalles im Harn führte. An einem zusätzlichen Effekt auf die Niere ist kein Zweifel. Dies wird verdeutlicht, wenn man die renale Komponente der beiden Zucker mit der allgemeinen Formel der renalen Clearance vergleichsweise abschätzt. Wie aus Tabelle 10 hervorgeht, ist der Mittelwert der renalen

Tabelle 10. *Mittelwerte mit Standardabweichung der nach der Formel* $C = \frac{\text{Urinkonzentration mg-\%} \times \text{Urinmenge ml/min}}{\text{Plasmakonzentration mg-\%}}$ *für die ersten beiden Stunden nach Belastung mit Menthol errechneten renalen Glucuronidclearances*

	ml/min
Leerversuche	57 ± 20
Mit Glucose	78 ± 19
Mit Fructose	67 ± 22

Glucuronidclearance für die ersten beiden Stunden unter Glucose eindeutig höher als im Leerversuch ($p < 0{,}01$). Neun der zehn Versuchspersonen zeigten höhere Werte. Aber auch in allen späteren Perioden des sechsstündigen Versuches lassen sich für die Glucose höhere Mittelwerte errechnen als für die Fructose und die Leerversuche. Der höhere Mittelwert der Fructosegruppe für die ersten 2 Std weicht von dem der Leerversuche nicht signifikant ab. Wenn also überhaupt ein zusätzlicher Einfluß auch der Fructose auf die Nieren bestehen sollte, so ist dieser wesentlich geringer ausgeprägt als der der Glucose.

Zwei Erklärungsmöglichkeiten erscheinen uns für die Wirkung der Glucose auf die Niere diskutabel:

Will man aus der Tatsache, daß sich die renale Glucuronidclearance nach Mentholbelastung dem Wert von 120 ml/min zwar nähert, diesen jedoch nicht überschreitet[3], ableiten, daß das Mentholglucuronid glomerulär filtriert und tubulär rückresorbiert wird, so könnte man eine kompetitive Hemmung der tubulären Glucuronidrückresorption durch die Glucose als Ursache der erhöhten Clearance annehmen. Die Glucose würde dann lediglich die Ausscheidung der bereits gebildeten Glucuronide durch die Niere fördern. Daß bei unserer Versuchsanordnung — wie zu erwarten — die Blutglucosespiegel nach Glucoseverabreichung stärker erhöht waren als im Leerversuch oder nach Fructoseverabreichung (Tabelle 11), wäre eine Voraussetzung für diese Annahme.

Tabelle 11 *. *Änderung des Blutglucosespiegels gegenüber dem Ausgangswert in mg-% unter den üblichen Versuchsbedingungen* (s. Text)
Mittelwerte von drei Versuchspersonen.

	1 Std	1½ Std	2 Std
	nach Belastung		
Leerversuche	− 2	0	+ 1
Mit Glucose	+ 16	+ 10	+ 14
Mit Fructose	+ 3	+ 4	+ 1

* Frl. cand. med. U. DEUTICKE sei für die enzymatische Bestimmung der Blutglucose gedankt.

Bei der Fructose wäre diese Hemmung der Rückresorption nicht oder zumindesten nicht im gleichen Maße zu erwarten, da der Fructosespiegel bei oraler Verabreichung von Fructose nur wenig ansteigt[32] und

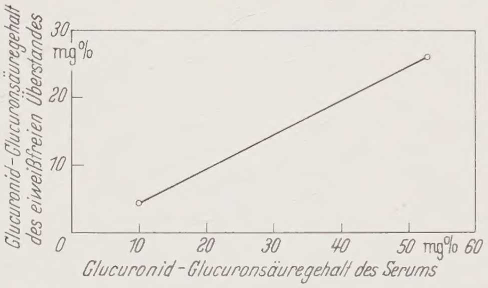

Abb. 2. Verhältnis von freiem (nicht an Eiweiß gebundenem) Glucuronid zum Gesamtglucuronid im menschlichen Serum. Mentholglucuronid wurde einem gepoolten Serum in unterschiedlicher Menge zugesetzt und neben dem Glucuronidspiegel des Serums der Glucuronidgehalt des eiweißfreien Überstandes nach Ultrazentrifugation bestimmt

unter unseren Versuchsbedingungen auch der Glucosespiegel durch die Fructose nicht wesentlich beeinflußt wurde.

Allerdings müßte der endgültige Beweis für die tubuläre Rückresorption des Mentholglucuronids noch erbracht werden, während eine glomeruläre Filtration nach unserer Bestimmung der Eiweißbindung des Mentholglucuronids im menschlichen Serum bereits als sicher anzusehen ist, da in dem in Frage kommenden Bereich etwa 50% der Gesamtglucuronide frei, d.h. nicht an Eiweiß gebunden vorliegen (Abb. 2).

Da, wie erwähnt, Glucuronide auch in der Niere gebildet werden können, könnte man als zweite Möglichkeit eine fördernde Wirkung des Traubenzuckers auf die Glucuronid*synthese* in der Nierenzelle diskutieren, die seine schlechtere Wirkung auf die Leber kompensieren würde. In der Niere hat die Glucose bei oraler Verabreichung beider Zucker bessere Chancen, zur Wirkung zu kommen als die Fructose, da sie in höherer Konzentration in den großen Kreislauf gelangt. In diesem Falle müßten aber die in der Niere gebildeten Glucuronide direkt an den Harn abgegeben werden. Es müßte also auch eine tubuläre Sekretion möglich sein, wie sie von SPERBER für Mentholglucuronid bei Hühnern nachgewiesen wurde[45].

Zusammenfassung. Beim gesunden Menschen läßt sich durch orale Verabreichung von Glucose bzw. Fructose ein beschleunigender Effekt auf die Mentholglucuronidbildung erzielen.

Beide Zucker führen innerhalb der ersten beiden Stunden nach der oralen Belastung mit Menthol zu einer gleichstarken Zunahme der Glucuronidausscheidung im Harn, die um etwa 50% höher liegt als im Leerversuch.

Der Glucuronidgehalt des Serums wird gegenüber dem Leerversuch nur durch die Fructose eindeutig erhöht.

Für die Glucose muß bei geringerem Einfluß auf die Glucuronidbildung in der Leber ein zusätzlicher Einfluß auf die Nieren angenommen werden.

Die unterschiedliche Wirkungsweise der beiden Zucker bei der Glucuronidbildung wird diskutiert.

Literatur. [1] Arias, J. M., L. Johnson and S. Wolfson: Studies of extrahepatic glucuronide formation in normal and gunn's rats. Clin. Res. 8, 28 (1960). — [2] Beck, K., u. E. Beck: Die Störung der Glucuronidbildung beim hämolytischen Ikterus. Acta Hepato-Splenol. 3, 155 (1960). — [3] Beck, K., u. B. Kiani: Zur Frage der Glucuronidbildung bei der funktionellen Hyperbilirubinämie unter Berücksichtigung der renalen Glucuronid-Clearance. Klin. Wschr. 9, 428 (1960). — [4] Beck, K., u. H. A. Kühn: Beitrag zur Pathogenese der funktionellen Hyperbilirubinämie. Z. klin. Med. 155, 547 (1959). — [5] Berg, P., and W. K. Joklik: Transphosphorylation between nucleoside polyphosphates. Nature (Lond.) 172, 1008 (1953). — [6] Brox, G.: Beiträge zum Glucuronsäurestoffwechsel. Dtsch. Z. Verdau.- u. Stoffwechselkr. 13, 198 (1953). — [7] Caputto, R., L. F. Leloir, C. E. Cardini and A. C. Paladini: Isolation of the coenzyme of the galactose phosphate — glucose phosphate transformation. J. biol Chem. 184, 333 (1950). — [8] Carbone, J. V., u. G. M. Grodsky: Constitutional nonhemolytic hyperbilirubinemia in the rat: defect of bilirubin conjugation. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 94, 461 (1957). — [9] Cardini, C. E., and T. Yamaha: Biosynthesis of plant glycosides from uridine diphosphate glucose. Nature (Lond.) 182, 1446 (1958). — [10] Crane, R. K.: Intestinal absorption of sugars. Physiol. Rev. 40, 789 (1960). — [11] Dische, Z.: A new spezific color reaction of hexuronic acids. J. biol. Chem. 167, 189 (1947). — [12] Doerschuk, A. P.: Radiotracer studies of the biosynthesis of conjugated d-glucuronic acid. J. biol. Chem. 195, 855 (1952). — [13] Dost, F. H.: Der Blutspiegel. Leipzig: Georg Thieme 1953. — [14] Douglas, J. F., and C. G. King: The conversion of C^{14}-labeled glucose to glucuronic acid in the guinea pig. J. biol. Chem. 202, 865 (1953). — [15] Dutton, G. J.: Uridine diphosphate glucuronic acid as glucuronyl donor in the synthesis of ester, aliphatic and steroid glucuronides. Biochem. J. 64, 693 (1956). — [16] Dutton, G. J., and C. G. Greig: Observations on the distribution of glucuronide synthesis in tissues. Biochem. J. 66, 52 (1957). — [17] Dutton, G. J., and I. D. E. Storey: The isolation of a compound of uridine diphosphate and glucuronic acid from liver. Biochem. J. 53, XXXVII (1953). — [18] Dutton, G. J., and I. D. E. Storey: Uridine compound in glucuronic acid metabolism. Biochem. J. 57, 275 (1954). — [19] Eisenberg, F., and S. Gurin: Degradation of biosynthetic glucuronic acid labeled with C^{14}. Fed. Proc. 10, 179 (1951). — [20] Eisenberg, F., and S. Gurin: The biosynthesis of glucuronic acid from 1-C^{14}-glucose. J. biol. Chem. 195, 317 (1952). — [21] Fishman, W. H., and S. Green: Microanalysis of glucuronide glucuronic acid as applied to β-glucuronidase and glucuronic acid studies. J. biol. Chem. 215, 527 (1955). — [22] Fretwurst, F., u. H. A. Ahlhelm: Untersuchungen über den Glucuronsäure-Stoffwechsel beim Menschen nach peroraler und intravenöser Zufuhr. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 217, 382 (1953). — [23] Ginsburg, F., and H. G. Hers: On the conversion of fructose to glucose by Guinea pig intestine. Biochim. biophys. Acta 38, 427 (1960). — [24] Grodsky, G. M., and J. V. Carbone: The synthesis of bilirubin glucuronide by tissue homogenates. J. biol. Chem. 226, 449 (1957). — [25] Hartiala, K. J.: Studies on detoxication mechanisms. III. Ann. Med. exp. Fenn. 33, 239 (1955). — [26] Heyde, W., u. H. Wieland: Untersuchungen über Entgiftung mittels Glucuronidbildung sowie deren Abhängigkeit vom Glykogen-Glucosehaushalt. Ärztl. Forsch. 8, 412 (1960). [27] Hollmann, S., u. E. Wille: Über das Schicksal der Glucuronsäure im tierischen Organismus. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 290, 91 (1952). — [28] Isselbacher, K. J.: Enzymatic mechanisms of hormone metabolism. II. Mechanism of hormonal glucuronide formation. Recent. Progr. Hormone Res. 12, 134 (1956). — [29] Kühn, H. A., K. Beck u. E. Deppe: Über Störungen der Glucuronidbildung bei der sogenannten funktionellen Hyperbilirubinämie. Gastroenterologia (Basel) 90, 101 (1958). — [30] Leloir, L. F.: The uridine coenzymes. Proc. 3rd Internat. Congr. Biochem., Brussels, p. 154, 1956. — [31] Leloir, L. F., and C. E. Cardini: Biosynthesis of glycogen from uridine diphosphate glucose. J. Amer. chem. Soc. 79, 6340 (1957). — [32] Leuthardt, F., u. K. Stuhlfaut: Biochemische, physiologische und klinische Probleme des Fructosestoffwechsels. In: Medizinische Grundlagenforschung, Bd. III. Stuttgart: Georg Thieme 1960. — [33] Lipschitz, W. L., and E. Bueding: Mechanism of the biological formation of conjugated glucuronic acids. J. biol. Chem. 129, 333 (1939). [34] Mehnert, H., K. Stuhlfaut, B. Mehnert u. W. Seitz: Vergleichende Untersuchungen zur Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit beim Menschen. Klin. Wschr. 21, 1138 (1959). — [35] Mills, G. T., A. C. Lochhead and E. E. B. Smith: Uridine pyrophosphoglucurosyl compounds and the formation of glucuronides by isolated enzyme systems. Biochim. biophys. Acta 27, 103 (1958). — [36] Mosbach, E. H., and C. G. King: Tracer studies of glucuronic acid biosynthesis. J. biol. Chem. 185, 491 (1950). — [37] Müting, D.: Die Glucuronsäurebildung bei Hepatitis und Lebercirrhose nach Belastung mit Glucose und Fructose. Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med., 63. Kongr. 1957. — [38] Munch-Petersen, A., H. M. Kalckar, E. Cutolo and E. E. B. Smith: Uridyl transferases and the formation of uridine triphosphate. Nature (Lond.) 172, 1036 (1953). — [39] Packham, M. A., and C. G. Butler: Studies of the biological synthesis of glucuronides. J. biol. Chem. 194, 349 (1952). — [40] Pogell, B. M., and L. F. Leloir: Nucleotide activation of liver microsomal glucuronidation. J. biol. Chem. 236, 293 (1961). — [41] Richter, E.: Inaug.-Diss. Freiburg i. Br. 1962 im Erscheinen. — [42] Schmid, F.: Recherches sur le lieu de formation des conjugés glycuroniques dans l'organisme. C. R. Soc. Biol. (Paris) 123, 223 (1936). — [43] Schmiedeberg, O., u. H. Meyer: Über Stoffwechselprodukte nach Campherfütterung. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 3, 422 (1876). — [44] Smith, E. E. B., and G. T. Mills: Uridine nucleotide compounds of liver. Biochim. biophys. Acta 13, 386 (1954). — [45] Sperber, I.: The excretion of some glucuronic acid derivates and phenol sulphuric esters in the chicken. Ann. roy. Agric. Coll. Sweden 15, 317 (1947). — [46] Strominger, J. L., H. M. Kalckar, J. Axelrod and E. S. Maxwell: Enzymatic oxidation of uridine diphosphate glucose to uridine diphosphate glucuronic acid. J. Amer. chem. Soc. 76, 6411 (1954). — [47] Strominger, J. L., E. S. Maxwell, J. Axelrod and H. M. Kalckar: Enzymatic formation of uridine diphosphoglucuronic acid. J. biol. Chem. 224, 79 (1957). — [48] Storey, I. D. E., et G. J. Dutton: Uridine diphosphate glucuronic acid. Proc. 3rd Internat. Congr. Biochem., Brussels, p. 162, 1956. — [49] Südhof, H.: Ein Beitrag zur Glucuronsäureentgiftung. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 290, 72 (1952). — [50] Südhof, H.: Ein weiterer Beitrag zur Glucuronsäureentgiftung. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 296, 267 (1954). — [51] Südhof, H.: Zur unterschiedlichen Stoffwechselwirkung von Glucose und Fructose. Klin. Wschr. 3/4, 91 (1954). — [52] Tenhunen, R., and R. Torsti: Observations on the synthesis of Bilirubine glucuronide in the rat organism. Scand. J. clin. Lab. Invest. 2, 162 (1959). — [53] Vest, F. M., and R. R. Streif: Studies on glucuronide formation in newborn infants and older children. A.M.A.J. Dis. Child. 98, 688 (1959). — [54] Williams, R. T.: Detoxication mechanisms, 1. Aufl. London: Chapman & Hall 1949. — [55] Williams, R. T.: Detoxication mechanisms, 2. Aufl. London: Chapman & Hall 1959.

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

Lebenslauf

Am 17. Juni 1935 wurde ich, Ernst Richter, als Sohn des Stadtamtmannes Friedrich Richter und seiner Ehefrau Margaretha, geb. Jürgensen, in Flensburg geboren.

Meine Kindheit verlebte ich im Hause meiner Eltern. Nach Volks- und Oberrealschulbesuch legte ich im Frühjahr 1955 am Goethe-Gymnasium in Flensburg die Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1955 begann ich an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg mit dem Medizinstudium, wo ich auch im Sommersemester 1957 das Physikum bestand. Das erste klinische Semester absolvierte ich an der Christian-Albrecht-Universität in Kiel. Danach kehrte ich nach Freiburg zurück, wo ich nach fünf weiteren klinischen Semestern im Herbst 1960 das Medizinische Staatsexamen ablegte.

Bislang war ich an der Medizinischen Universitätsklinik in Freiburg und in der gynäkologischen Abteilung der Diakonissenanstalt in Flensburg als Medizinalassistent tätig.

Zur Zeit bin ich Medizinalassistent in der chirurgischen Abteilung des Rosmann-Krankenhauses in Breisach am Rhein.

Freiburg i. Br., Februar 1963

Ernst Richter